



TITLE:

## 7.経口投与による酸, 塩基, 塩溶液のカイコの体液成分におよぼす形響

AUTHOR(S):

黒田, 秧

---

CITATION:

黒田, 秧. 7.経口投与による酸, 塩基, 塩溶液のカイコの体液成分におよぼす形響. 防虫科学 1977, 42(1): 58-61

ISSUE DATE:

1977-02-28

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/158939>

RIGHT:

and without metepa were compared, the development of both epidermal cells and tracheoles was disturbed by the treatment of this chemical. According to the histopathological observation in *P. xuthus*, there appeared the inhibition of cell division and giant nuclei or both degeneration and histolysis of epidermal cells were observed in the wing discs treated with metepa. While, in the *in vitro* experiments, the development of *M. brassicae* wing discs was inhibited in the medium containing both metepa and  $\beta$ -ecdysone after 48 hr of cultivation, although they were developed by the  $\beta$ -ecdysone-action at the beginning of cultivation. From these results it

was concluded that the deformation of the wing parts in these species was caused by the inhibitory effects of metepa on the division of epidermal cell of wing discs. Abnormal adults with the darkened and light browned wing emerged from slightly deformed pupae of *P. xuthus* and *M. brassicae*, respectively. The wing scales of these adults showed the morphological abnormality. These deformed scales were due to abnormal division of scale-forming cell induced by alkylating action of metepa in *Galleria*. No deformity in the wing parts was observed by the administration of nonalkylating agent hempa.

**Effects of Oral Administration of Acid, Base and Salt Solutions Upon the Concentration of Some Blood Constituents in Silkworm Larvae.** Shigeru KURODA (Sericultural Experiment Station, Hino-shi, Tokyo) Received June 19, 1976. *Botyu-Kagaku*, 42, 58, 1977. (with English Summary 60)

**7. 経口投与による酸、塩基、塩溶液のカイコの体液成分におよぼす影響** 黒田 稔 (農林省蚕糸試験場, 東京都日野市) 51. 6. 19 受理

葉液の経口投与の設定を目的として、カイコに各種葉液を投与し体液成分中の蛋白質と  $\alpha$ -ケトグルタル酸の量への影響を調べたところ、塩類の投与濃度に比例して、これら体液成分量に増加が認められ、影響の現われる最近投与量は約 2 mg/g 体重と推定された。体液成分の増加の原因は、脱水にともなう体液の濃縮によることが判明した。

経口投与による各種葉液の昆虫類に対する影響については多くの研究が行なわれている。しかし、投与葉液自体の効果を明確に把握するためには投与条件の綿密な設定が必要であるが、種々の条件による一般的な生体への影響についてはあまり知られていないようである。そこで、投与条件設定の資料を得るため、まずカイコの幼虫に酸、塩基、塩溶液を経口投与して蛋白質および  $\alpha$ -ケトグルタル酸 ( $\alpha$ -KG) などの体液成分におよぼす影響を調べたところ、興味深い知見を得たので報告する。

本文に先だち、有益な助言をいただいた理化学研究所深見順一博士に、また本稿の御校閲の労を賜った農林省蚕糸試験場入戸野康彦博士、蒲生卓磨博士に心から謝意を表する。

#### 材料および方法

**供試昆虫：**実験には現行蚕品種の原種支 124 号の第 5 齢 2 日目の雌幼虫を用いた。

**供試薬剤：**実験に用いた薬剤は塩酸、マロン酸、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.5) の各溶液であり、おのおの致死濃度

に至るまでの 4～7 段階の希釈液を調整した。

**実験方法：**これら葉液はツベルクリン用注射器を用い一頭当たり 0.1 ml を消化管内に経口的に注入する方法で投与した。体液の採取には 1 区 15 頭の幼虫を供試し、4 時間絶食の後に 5 頭づつ 3 分割して体液を採取し測定まで  $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。測定は各区 3 連制で行ないそれらの平均値で分析値を示した。体液成分の分析は、まず体液 0.1 ml に 3% トリクロル酢酸 2 ml を加え遠心分離した。蛋白質の定量は沈澱分画を 0.4M 水酸化ナトリウム 2ml で溶解後、その 50  $\mu$ l について Hartree<sup>1)</sup> の方法により Folin 試薬を用いて行なった。一方、 $\alpha$ -KG は上清分画から 0.5 ml を分取し大倉ら<sup>2)</sup> の方法によって定量した。また、体液における蛋白質の成分は Ornstein<sup>3)</sup> の方法に従い、5% ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動により調べた。なお、泳動には蛋白質の定量値に従い、一定の蛋白量になるよう体液量を加減して用いた。

#### 結果および考察

種々の濃度の水酸化ナトリウム溶液、塩酸、塩化ナトリウム溶液、リン酸緩衝液をそれぞれ経口投与し、

体液中の蛋白質および  $\alpha$ -KG の 2 成分への影響について調べたところ、Fig.1 に示す結果が得られた。

塩酸投与では、1Mでカイコは仮死状態となり、1.5Mでは全個体が死亡した。体液中の 2 成分は投与濃度が相違しても一定値を示した。水酸化ナトリウム溶液の投与では 0.25Mで吐液量が多くなり、0.5Mでは全個体が死亡した。この致死濃度は塩酸投与に比べてはるかに低濃度であり、カイコは酸よりも塩基に対して極めて弱いことが推察される。一方、体液中の 2 成分は葉液の投与濃度が高まるにつれてやや増加する傾向を示した。リン酸緩衝液および塩化ナトリウム溶液を投与した場合では、2M投与区とともに吐液量が増加し体躯の緊張感がなくなり、しかも体液の採取が極めて困難なほど少量であった。体液中の蛋白量はこれら葉液の投与濃度に比例して増加したが、リン酸緩衝液投与の方がこの傾向がより顕著であった。また、 $\alpha$ -KG 量も同様な増加傾向を示したが蛋白量ほど顕著ではなかった。しかし、Fig.2 に示したように蛋白量を投与葉液における溶質の質量にもとづいて比較すると、質量の増加にともなう体液蛋白量の増加はほぼ同一な直線的関係を示した。×印のマロン酸溶液(後述)を含めたこれら葉液の投与量(X)と体液蛋白量(Y)との関係は、 $Y = 10.87 + 0.65X$  の回帰直線によって表わすことができる。この結果、リン酸緩衝液を塩類とみなすと、体液中の蛋白量は消化管内に注入された塩類の質量に強く影響を受けていることが明白であり、その最低影響量は第5齢2日目の雌において約

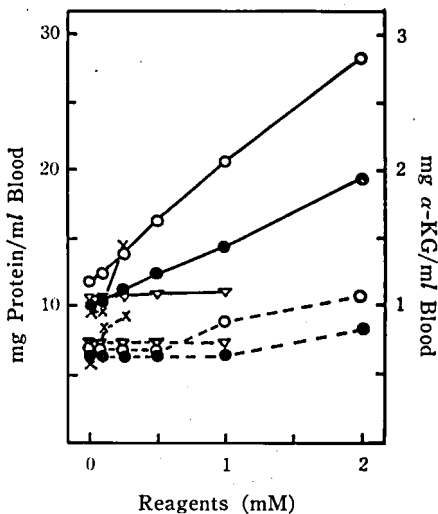


Fig. 1. Effect of administration of: phosphate buffer solution at pH 6.5 ○; NaCl ●; HCl ▽; NaOH ×; on  $\alpha$ -ketoglutaric acid (dashed line) and protein (solid line) in blood of silkworm larvae.

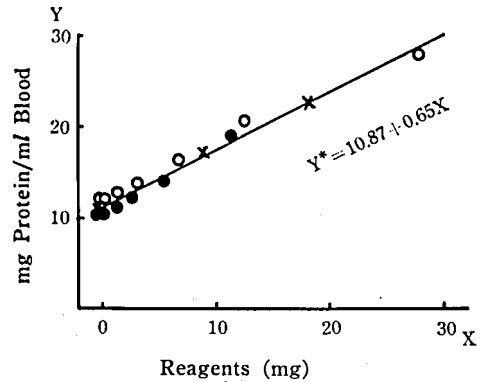


Fig. 2. Relation between the concentration of orally administered salts and protein content in blood of the silkworm larvae. ○: phosphate buffer solution (pH 6.5); ●: NaCl; ×: malonate (pH 6.5) ※: regression line between those salts and protein.

2mg/g 体重と推定される。

塩類の投与により体液中の蛋白量に増加が認められたが、これが特定の蛋白質成分の増加によるものかどうかを明らかにするため、電気泳動法により蛋白成分を比較した (Fig.3)。その結果、1Mリン酸緩衝液および2M塩化ナトリウム溶液と蒸留水投与区との間で体液成分に差異は認められなかった。このことは、これら葉液の消化管内への投与による体液中の蛋白量の増加は体液の濃縮に起因することが推察される。ところで、葉液のモル濃度とその浸透圧とは比例関係にあるが、Fig.1 で示したように塩酸投与区では体液成分量に変化を示さなかったため、増加現象の原因を葉液の浸透圧のみにより説明することはできない。ただ塩類がこの現象に関して何らかの重要な物理化学的役割を演じていることは確かである。また、蛋白量に比べて  $\alpha$ -KG 量がそれほど増加しなかった原因としては、 $\alpha$ -KG は低分子であるので消化管の膜の変化によって体液水分とともに消化管内に出たためとも考えられる。

これまで塩類を塗布した桑葉でカイコを飼育すると発育不良になることが報告されている<sup>4,5)</sup>。これは今回の試験でみられたような塩類投与による体液の脱水現象もその一因として考えられる。

以上の結果にもとづき、代謝阻害物質を経口投与しこれら体液成分への影響を調べた (Fig.4)。すなわち、0.5Mおよび1Mのマロン酸は強酸性 (pH 1.28) であるが、これを直接カイコに投与するか、あるいはマロン酸のモル濃度を変えずに水酸化ナトリウムではほぼ中性 (pH 6.5) に調整したのちに投与してその影響を比較した。pH 無調整の投与区では、前述の塩酸の場

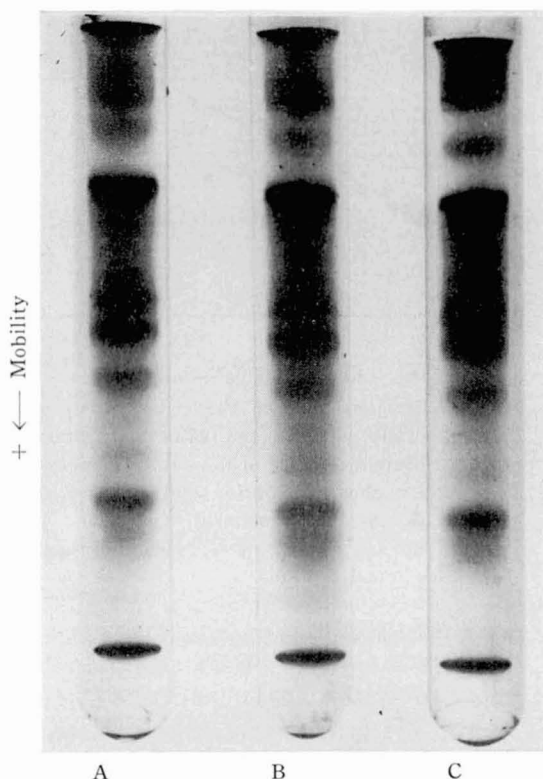


Fig. 3. Electrophoretic patterns of blood proteins of the silkworm larvae orally administered salts.

A: D.W. (2  $\mu$ l blood was used); B: 1M phosphate buffer solution (1  $\mu$ l blood); C: 2M NaCl (1  $\mu$ l blood).

合と同様に体液蛋白量に何ら影響が認められなかったが  $\alpha$ -KG 量は減少した。すなわち、コハク酸脱水素酵素がマロン酸により阻害されたためにクエン酸回路が止まり、体液中の  $\alpha$ -KG がコハク酸に酸化されて  $\alpha$ -KG が減少したものと考えられる。一方、pH 6.5 に調整した投与区では、蛋白量は投与濃度に比例して増加するとともに  $\alpha$ -KG 量も増加の傾向を示し、薬理効果はほとんど認めることができなかった。このマロン酸投与区の質量を Fig. 2 に  $\times$ 印で示したが、それは他の2種の塩溶液の質量に対する体液蛋白量の増加関係とよく一致しており、脱水により体液が濃縮されたことを如実に示している。

以上の結果から、薬液を経口投与してその影響を調べる実験においては薬液中の塩類の質量にも留意することが必要と考えられる。

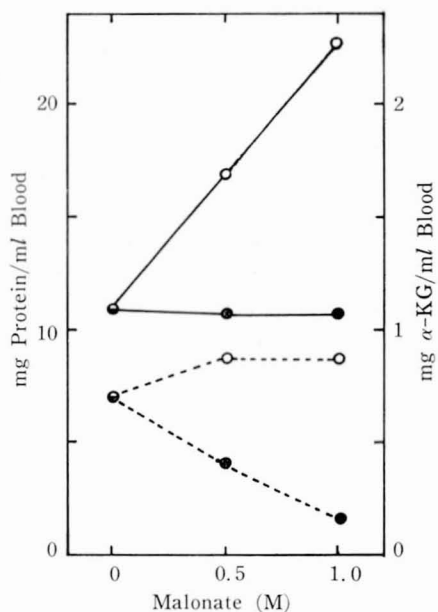


Fig. 4. Effect of pH of malonate orally administered on  $\alpha$ -ketoglutaric acid (dashed line) and protein (solid line) content in blood of the silkworm larvae.  
●: pH 1.28 (unadjustment); ○: pH 6.5 (adjustment with NaOH)

#### 引用文献

- 1) Hartree, E. F.: *Anal. Biochem.*, 48, 422 (1972).
- 2) 大倉洋甫, 松村一彦, 浜田 浩, 百瀬 勉: *Japan Analyst*, 20, 480 (1971).
- 3) Ornstein, L.: 代謝, 2, 63 (1965).
- 4) 須田保明, 高須敏夫: 蚕糸研究, 43, 32 (1962).
- 5) 持田正彦: 埼玉蚕試要報, 37, 48 (1965).

#### Summary

The effects of oral administration of acid, base and salt solution upon the concentration of protein and  $\alpha$ -ketoglutaric acid ( $\alpha$ -KG) in larval haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*, were studied. When acidic or basic solution (100  $\mu$ l/larva) at the syncopic dose was administered orally to the 2 days-old larvae at the 5th instar, 0.25M sodium hydroxide increased the amounts of protein and  $\alpha$ -KG in unit volume of haemolymph, while 1M hydrochloric acid unaffected. In the administration of sodium chloride or phosphate buffer, the amount of the both constituents in haemolymph remarkably increased proportionally as the molar concentration increased. The mini-

mum amount of these solutions to affect on the protein concentration in larval haemolymph was estimated to be approximately 2mg per g larval weight. Since any alteration in protein component was not demonstrated by the gel electrophoretic

analyses, the increment of protein concentration in larval haemolymph by the oral administration of salt solution seems to be brought about by the dehydration of water from haemolymph.

## 抄 録

### Disparlure: Gypsy moth と nun moth におけるフェロモン知覚の差異

Disparlure: Difference in Pheromone Perception between Gypsy Moth and Nun Moth.

D. KLIMETZEK, G. LOSKANT, J.P. VITÉ and K. MORI: *Naturwissenschaften*, 63, 581 (1976).

Gypsy moth (マイマイガ) も近縁の nun moth も共に (7R, 8S)-(+) -disparlure によく反応する。しかし、これに等量の (7S, 8R)-(-) -disparlure を加えると、nun moth には影響を与えないのに、gypsy moth では反応が抑制される。その種だけに特異な化合物がない限り、一般にフェロモンによる交信に差が生ずるのは、(1) フェロモン—フェロモンの組合せが異なる、(2) フェロモン—カイロモンの組合せが異なる、(3) 複数の同じ化合物であっても組合せの比が異なる、時である。

粘着トラップを用いて、野外で捕獲試験を行なった。ドイツで2日間にかけたトラップで1個当りの nun moth の捕獲数は、(+) -disparlure の濃度に比例して増加し、(-) -disparlure の添加量には関係がなかった。これに対して、gypsy moth は(-) -disparlure の添加によって誘引性が大きく抑制された。

一つの化合物で、chiral な性質の違いだけで誘引性の種特異性に差がある例である。(高橋正三)

### 昆虫フェロモンの chirality: 不活性対掌体による反応の抑制

Chirality of Insect Pheromones: Response Interruption by Inactive Antipodes.

J.P. VITÉ, D. KLIMETZEK, G. LOSKANT, R. HEDDEN and K. MORI: *Naturwissenschaften*, 63, 582 (1976).

(S)-*cis*-verbenol は、キクイムシ *Ips typographus* のフェロモンであるが、(R)-*cis*-verbenol には反応しない。また、キクイムシ *Gnathotrichus sulcatus* は集合フェロモンの sulcatol に反応するが、エナンチオマーの混合物の時にだけ反応する。また、ドクガでは、マイマイガは、(7R, 8S)-(+) -disparlure だ

けに反応する。今回、エナンチオマーの混合比を変えて野外での捕獲数に対する影響を調べた。

*I. calligraphus* は、ipsdienol と (S)-*cis*-verbenol の混合物だけに反応した。Ipsdienol と (R)-*cis*-verbenol との混合物は捕獲数が減少した。

マイマイガについてのテストでは、(7R, 8S)-(+) -disparlure に多数が誘引され、(7S, 8R)-(-) -disparlure あるいは、エナンチオマーの混合物には僅かしか誘引されなかった。マイマイガの性フェロモンの EAG で、不活性なエナンチオマーが活性なエナンチオマーの反応を抑制することが示されているが、上の実験結果はそれを支持するものである。この抑制作用は、ラセミ化合物あるいは不活性な異性体の比が増加するのに応じて増加している。従って光学活性的に不純でも低濃度の混合の時には、比較的活性に与える影響は少ないことが理解できる。(高橋正三)

### ヤスデ類の防御物質

Benzoyl Cyanide and Mandelonitrile Benzoate in the Defensive Secretions of Millipedes.

S.S. DUFFEY, M.S. BLUM, H.M. FALES, S.L. EVANS, R.W. RONCATORI, D.L. TIEMANN and Y. NAKAGAWA: *J. Chem. Ecol.*, 3, 101 (1977).

18種のヤスデ (Polydesmidae 1種, Paradoxosomatidae 2種, Euryuridae 3種, Xystodesmidae 12種) の分泌する防御物質について、chemotaxonomical な観点から研究を行なった。

Xystodesmidae のヤスデは、例外なく benzoyl cyanide を生産し、全分泌液の約10%に相当する。一方、benzoyl cyanide は、Polydesmidae, Paradoxosomatidae, Euryuridae では、見つかっていない(表)。

*Oxidus gracilis* と Xystodesmidae の%の種では、分泌液中に、benzoic acid が検出され、約40%を占める。調べたヤスデの約75%が、mandelonitrile benzoate を分泌することから考えると、benzoic acid の存在は、生化学的にみても矛盾がない。Mandelonitrile benzoate は、約10%あるいはそれ以下の量で